

Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System

INSTRUCCIONES DE USO DEL PRODUCTO AS1155.

Precaución: Maneje los cartuchos con cuidado, los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.





Productos sanitarios para diagnóstico in vitro



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania



INSTRUCCIONES DE USO DEL PRODUCTO
AS1155

IMPRESO EN EE. UU. 4/13

Ref. n.º TB386





Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System

Toda la literatura técnica se encuentra disponible en Internet en: www.promega.com/tbs/ Visite nuestro sitio web para comprobar que está utilizando la versión más reciente de este manual técnico. Si tiene alguna pregunta sobre el uso de este sistema, póngase en contacto con los Servicios técnicos de Promega. Dirección de correo electrónico: techserv@promega.com

Este producto cumple los requisitos esenciales de la directiva de la EU 98/79/CE sobre dispositivos médicos para diagnóstico in vitro. El Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System está diseñado para su uso únicamente en los países siguientes: Alemania, Austria, Bélgica, Dinamarca, España, Finlandia, Francia, Grecia, Irlanda, Italia, Luxemburgo, Noruega, Países Bajos, Portugal, Reino Unido, Suecia y Suiza.

1. Uso previsto

El Maxwell® 16 System, que está formado por el Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System[(a)] y el Maxwell® 16 Instrument configurado con el hardware para volumen de elución bajo (LEV), se utiliza para la purificación automatizada de ácidos nucléicos virales viral de entre 1 y 16 muestras de plasma o suero humanos. Los ácidos nucléicos purificados se eluyen en 50 µl de tampón de elución y son aptos para su uso en análisis directos posteriores realizados mediante métodos de amplificación estándar. Estos métodos incluyen diversas pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o de reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR) para diagnóstico in vitro en humanos. El Maxwell® 16 System no está diseñado para su uso como parte de una prueba in vitro específica.



1. Uso previsto (continuación)

El Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System sólo está diseñado para uso profesional. Los resultados diagnósticos obtenidos mediante el uso de los ácidos nucléicos purificados con este sistema deberán interpretarse junto con otros datos clínicos o de laboratorio.

2. Limitaciones de uso del producto

El Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System no está diseñado para usarse con muestras clínicas de sangre total, tejido o fluidos corporales que no sean plasma o suero humanos. No está diseñado para su uso con muestras que no sean de origen humano ni para el aislamiento de ácidos nucléicos de otros organismos no virales.

Se ha evaluado el rendimiento del Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System utilizando para ello 300 µl de suero o plasma humano que contenían muestras de virus ADN y ARN tipo fago, virus inactivos de la hepatitis C (HCV) y citomegalovirus (CMV).

El usuario es responsable de validar las características de rendimiento necesarias para las aplicaciones diagnósticas posteriores. Los usuarios pueden elegir si desean añadir controles internos (IC) exógenos a la muestra o lisado. Es posible que el sistema no purifique de forma eficiente algunos controles internos con tamaño inferior a 100 bp. El usuario es responsable de establecer el rendimiento de cualquier IC. Deben incluirse los controles apropiados en cualquier aplicación diagnóstica posterior que utilice los ácidos nucléicos purificados mediante el Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System.

El cumplimiento con la directiva de la UE 98/79/CE sobre dispositivos médicos para diagnóstico in vitro queda demostrado únicamente para el uso del Maxwell® 16 IVD Instrument (n.º de cat. AS3050) en modo clínico con Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System (n.º de cat. AS1155).

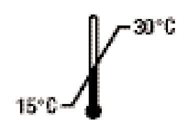


3. Componentes del producto, condiciones de almacenamiento y leyenda de símbolos

Producto	Tamaño	N.º de cat.
Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System	48 purificaciones	AS1155

Cada sistema contiene los reactivos suficientes para 48 purificaciones.







Incluye:

- 48 Maxwell® 16 LEV Cartridges (MCC)
- 20 ml Tampón lítico
- 2 × 1 ml Solución de endopeptidasa K (PK)
- 20 ml Agua libre de nucleasa
- 50 Émbolos para LEV
- 50 Tubos de elución (0,5 ml)

Condiciones de almacenamiento: almacene los componentes a temperatura ambiente (15 – 30 °C). Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta del producto. No utilice el producto después de la fecha de caducidad.



Información de seguridad: Los Maxwell® 16 LEV Cartridges contienen etanol e isopropanol, que son inflamables, así como clorhidrato de guanidina y urea, que son irritantes y tóxicos. Utilice guantes y siga los procedimientos estándar de seguridad mientras trabaje con estas sustancias.

Para obtener información de seguridad adicional, consulte la ficha técnica de seguridad del material disponible en: **www.promega.com**



Los Maxwell® 16 LEV Cartridges están diseñados para su uso con sustancias potencialmente infecciosas. Los usuarios deberán llevar la protección adecuada (por ejemplo, guantes y gafas) cuando manipulen sustancias infecciosas. Los usuarios deberán seguir las directrices institucionales de manipulación y eliminación de todas las sustancias infecciosas utilizadas en el sistema.



Nota: Debido a la toxicidad de las sustancias químicas utilizadas en el procedimiento de purificación y a la prevalencia de ARNasas, recomendamos utilizar guantes durante la preparación de las muestras y los cartuchos.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania



Leyenda de símbolos

Símbolo	Explicación	Símbolo	Explicación
IVD	Productos sanitarios para diagnóstico in vitro	EC REP	Representante autorizado
15 °C – 30 °C	Almacenamiento a 15 – 30 °C.	PROMEGA 2800 Woods Hollow Rd. Madison, WI USA	Fabricante
!	Importante	✖	Dañino. Irritante.
Σ <n>	Contiene suficiente para "n" pruebas	CE	Conformité Européenne
	Advertencia. Riesgo biológico.		Advertencia. Peligro de atrapamiento.
REF	Número de catálogo	LOT	Número de lote
2	No reutilizar.		

4. Configuración del hardware y el firmware del Maxwell® 16 Instrument

Para utilizar el Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System, el Maxwell® 16 IVD Instrument debe presentar la configuración de hardware LEV. Si el Maxwell® 16 Instrument contiene hardware SEV (volumen de elución estándar), deberá volver a configurarlo mediante el Maxwell® 16 LEV Hardware Kit (n.º de cat. AS1250). La reconfiguración del instrumento es sencilla. Consulte el manual técnico del *Maxwell® 16 IVD Instrument.* n.º TM315 para obtener más instrucciones.



5. Recogida y almacenamiento de muestras antes de la purificación



Se recomienda tomar precauciones frente a los patógenos de transmisión hemática cuando se manipulen muestras humanas.

Recoja las muestras en tubos de Vacutainer® con anticoagulante EDTA o ACD. Evite la heparina ya que puede inhibir amplificaciones posteriores.

Las recomendaciones generales proporcionadas a continuación se refieren a la preparación y el almacenamiento de muestras de plasma y suero (1,2). Separe el plasma de las células en la hora posterior a la extracción de sangre mediante un centrifugado a 1.500 × *g* durante 20 minutos a 25 °C. A continuación, decante en un tubo limpio. Separe el suero de la sangre coagulada mediante un centrifugado a 1.000 × *g* durante 10 minutos a 25 °C. A continuación, decante en un tubo limpio. Almacene las muestras de plasma y suero a 2 – 8 °C durante un máximo de 24 horas o congele las muestras no procesadas en las 24 horas posteriores a -20 °C durante un máximo de 5 días. Evite los ciclos repetidos de congelación-descongelación y no almacene las muestras en un congelador que no genere escarcha. Las condiciones específicas de recogida y almacenamiento pueden variar en función de los virus aislados. Esta información se puede obtener en la información técnica del sistema de análisis posteriores. Los virus de ARN pueden degradarse en cualquier paso de la extracción y el procesamiento de muestras. Proporcione un entorno sin ARNasa durante todos los pasos del procedimiento.

6. Purificación de ácidos nucléicos total viral procedente de plasma o suero



Mantenga un entorno libre de ARNasa durante el procesamiento. Utilice siempre puntas de pipeta resistentes a aerosoles y sin ARNasa. Cambie de guantes con frecuencia para reducir las posibilidades de contaminación por ARNasa.

El proceso de aislamiento incluye el lisado de muestras en presencia del tampón lítico y la endopeptidasa K a 56 °C en un bloque calefactado o baño de agua. Este tratamiento elimina la capa de proteínas virales e inactiva las ARNasas de la muestra. Las muestras se transfieren al pocillo de la muestra del Maxwell® 16 LEV Cartridge y el resto del procesamiento está completamente automatizado. Las partículas paramagnéticas se mezclan con la muestra para un ligado óptimo del ácido nucleico y, posteriormente, se lavan en varios tampones. La elución se realiza en agua sin nucleasa.

Materiales que ha de aportar el usuario

- tubos de microcentrífuga de 1,5 ml o 2 ml, sin nucleasa
- tubo para solución lítica
- bloque calefactado o baño de agua a 56 °C
- Tubos de 0,5 ml, sin nucleasa
- puntas de pipeta sin ARNasa, estériles y resistentes a aerosoles



6.A. Preparación de la solución lítica

Si el tampón lítico está turbio o contiene precipitados, caliéntelo a 37 – 56 °C hasta que se aclare.


Prepare una solución lítica nueva para cada lote de muestras como se describe en la tabla 1. Recomendamos preparar aproximadamente un 20% extra de solución lítica para compensar las posibles pérdidas de la pipeta.

Tabla 1. Preparación de solución lítica para muestras de plasma o suero de 300 µl.

Reactivo	Volumen para una muestra	Volumen para 16 muestras[1]
Tampón lítico[2]	300 µl	5.700 µl
Solución de endopeptidasa K	30 µl	570 µl

[1]Los volúmenes indicados para el tampón lítico y la solución de endopeptidasa K para 16 muestras incluyen aproximadamente el 20% de volumen extra.

[2]Si se utiliza un control interno, puede añadirse a la solución lítica. Este kit no incluye controles internos.

6.B. Preparación de muestras para Maxwell® 16 LEV Cartridges

Las muestras de plasma o suero pueden ser frescas o congeladas. Descongele las muestras congeladas a temperatura ambiente o en hielo y mezcle mediante un vórtex durante 10 segundos antes de su uso.

Etiquete los tubos de microcentrífuga utilizados en la lisis de las muestras. Puede utilizarse la opción de etiquetado mediante códigos de barras.

1. Pipetee cada muestra de plasma o de suero en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml o 2 ml con tapa.
2. Añada la solución lítica preparada en la sección 6.A. Para muestras de 300 µl, añada 330 µl de solución lítica.
3. Cierre los tubos y mezcle mediante el vórtex durante 10 segundos.
4. Para muestras de sangre, continúe en paso 5.
   Para muestras de suero, incube a temperatura ambiente (15-30 °C) durante 10 minutos, a continuación, continúe en el paso 5.
5. Incube a 56 °C en un bloque calefactado o un baño de agua durante 10 minutos. Durante esta incubación, continúe en el paso 6 para preparar los cartuchos.

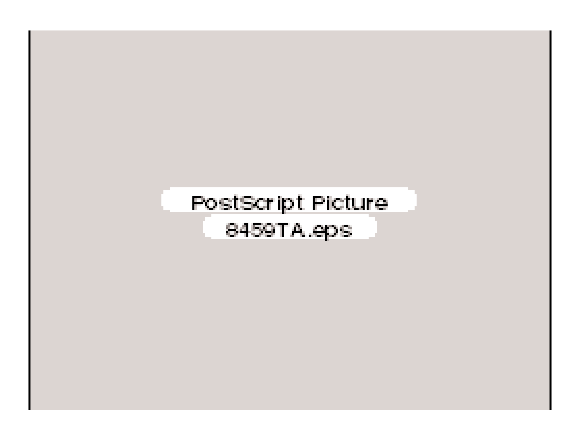
   Nota: Las muestras que contengan virus como el de la hepatitis B deben incubarse a 80 °C, debido a la estructura secundaria del genoma viral, para conseguir la recuperación de ácido nucleico.
6. Cambie de guantes antes de manipular los cartuchos, émbolos para LEV y tubos de elución. Coloque los cartuchos que hay que utilizar en el Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack (n.º de cat. AS1251). Coloque cada cartucho en la gradilla con la cara de la etiqueta mirando al lado contrario del tubo de elución. Presione hacia abajo el cartucho para encajarlo en su sitio. Tire cuidadosamente del sistema de sellado para retirar por completo el plástico de

la parte superior del cartucho. Asegúrese de haber eliminado toda la cinta de sellado y el adhesivo residual antes de colocar los cartuchos en el instrumento.

Notas:

1. Si está procesando menos de 16 muestras, centre los cartuchos en la plataforma.
2. Los derramamientos de muestras o reactivos en cualquier parte del Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack deberán limpiarse con una solución de agua y detergente y, posteriormente, con un spray o paño bactericida seguidos por agua. No utilice lejía en ninguna parte del instrumento.

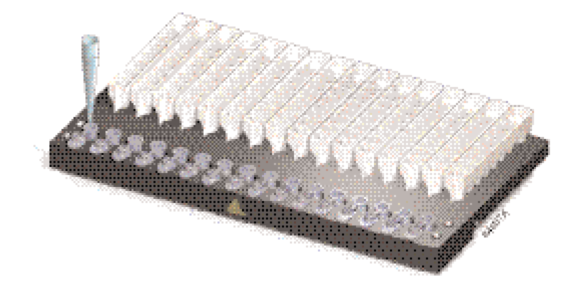
7. Coloque un émbolo para LEV en el pocillo n.º 8 de cada cartucho. El pocillo n.º 8 es el más cercano al tubo de elución.



8. Coloque tubos de elución de 0,5 ml en la parte frontal del Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Añada 50 µl de agua libre de nucleasa en el fondo de cada tubo de elución.

Notas:

1. Si el agua libre de nucleasa se encuentra en el lateral del tubo, es posible que la elución no sea óptima.
2. Utilice únicamente los tubos de elución de 0,5 ml proporcionados en el kit. Es posible que otros tipos de tubos no funcionen con el Maxwell® 16 Instrument.



9. Transfiera el lisado de la muestra al pocillo n.º 1 del cartucho. El pocillo n.º 1 es el más cercano a la etiqueta del cartucho y el más lejano del tubo de elución.



6.C. Ejecución del Maxwell® 16 IVD Instrument

Consulte el manual técnico del *Maxwell®16 IVD Instrument* n.º TM315 para obtener información detallada sobre la configuración y la ejecución del Maxwell®16 IVD Instrument.

1. Encienda el Maxwell® 16 IVD Instrument. El instrumento se encenderá, mostrará el número de versión de firmware, realizará las autocomprobaciones y colocará todas las piezas en la posición de inicio.
2. Compruebe que la pantalla Inicio indique el hardware LEV y que esté instalado el hardware SEV. Pulse Run/Stop para continuar.
3. Introduzca un usuario y su PIN, si está activada esta opción.
4. En la pantalla Protocolos, seleccione Viral.
5. En la pantalla siguiente, verifique que se han seleccionado el método y el usuario correctos. Seleccione Run/Stop para continuar.
6. Abra la puerta cuando se le indique en pantalla y seleccione Run/Stop.



Advertencia: Peligro de atrapamiento.

7. Siga las instrucciones en pantalla para introducir los datos del lector del código de barras si esta opción está activada.



8. Transfiera el Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack que contenga los cartuchos preparados a la plataforma del Maxwell® 16 IVD Instrument. Asegúrese de que la gradilla esté colocada en el Maxwell® 16 IVD Instrument con los tubos de elución próximos a la puerta. La gradilla sólo encajará en el instrumento en esta orientación. Si tiene dificultades para encajar la gradilla en la plataforma, compruebe que la gradilla se encuentre en la orientación correcta. Asegúrese de que la gradilla esté nivelada en la plataforma del instrumento.

   Nota: Sostenga el Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack por los laterales para evitar que los cartuchos se salgan.

9. Verifique que las muestras se han añadido al pocillo n.º 1 de los cartuchos, que los cartuchos de la gradilla están cargados en el instrumento, que los tubos de elución están presentes con 50 µl de agua libre de nucleasa y que los émbolos para LEV se encuentran en el pocillo n.º 8.
10. Seleccione Run/Stop en la pantalla Configuración LEV. La plataforma se retraerá. Cierre la puerta.



Advertencia: Peligro de atrapamiento.

11. El Maxwell® 16 IVD Instrument iniciará de forma inmediata la purificación. La pantalla mostrará el tiempo aproximado restante.

    Notas:

    1. Si pulsa el botón Run/Stop o abre la puerta, la ejecución se detendrá.
    2. Si se abandona la ejecución antes de su finalización, el instrumento retirará las partículas de los émbolos y eyectará estos últimos en el pocillo n.º 8 del cartucho. Se perderán las muestras.



12. Cuando haya finalizado la ejecución de purificación automatizada, siga las instrucciones en pantalla para realizar la transferencia de datos. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el manual técnico del *Maxwell®16 IVD Instrument* n.º TM315 y del manual técnico del *Maxwell Sample Track Software* n.º TM314.
13. Para abrir la puerta, siga las instrucciones en pantalla que aparecen al final del método. Verifique que los émbolos se encuentren en el pocillo n.º 8 del cartucho al final de la ejecución. Si los émbolos no se sueltan de la barra del émbolo magnético, empújelos suavemente hacia abajo con sus manos para retirarlos.
14. Pulse Run/Stop para extender la plataforma hacia afuera del instrumento.



Advertencia: Peligro de atrapamiento.

15. Retire el Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack del instrumento. Retire los tubos de elución que contengan ácido nucleico viral y cierre los tubos.
16. Centrifugue los tubos de elución a 10.000 x g durante 2 minutos. Transfiera el sobrenadante a un tubo limpio (no suministrado). Evite transferir partículas paramagnéticas así como cualquier desecho flotante.



17. Retire los cartuchos y los émbolos del Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack y deseche los residuos peligrosos. No reutilice los cartuchos de reactivos, émbolos para LEV ni tubos de elución.



Asegúrese de que las muestras se retiran del Maxwell® 16 IVD Instrument antes del tratamiento mediante luz UV para evitar daños al ácido nucleico.

7. Almacenamiento de ácido nucleico eluido

Si las muestras no se procesan de forma inmediata, almacene el ADN viral eluido en hielo o a 4 °C durante un máximo de 24 horas. Para un almacenamiento más prolongado, congélelo a -20 °C o -70 °C. El ARN viral es menos estable y es preferible que se pruebe en análisis posteriores inmediatamente después del aislamiento. Del mismo modo, puede almacenar el ARN viral eluido a -70 °C. Para conocer las recomendaciones específicas de manipulación y de almacenamiento de muestras, consulte las instrucciones de las aplicaciones posteriores.

8. Bibliografía

1. Clinical Laboratory Standards Institute (2007). Handling, transport, and storage of specimens for molecular methods. Puede visualizarse en línea en: **www.clsi.org**
2. Murray, P.R. *et al.* (2007) *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition, ASM Press.



9. Solución de problemas

En caso de que tenga alguna duda que no resuelva esta sección, póngase en contacto con su distribuidor o sucursal local de Promega. Puede obtener información de contacto en: www.promega.com. Correo electrónico: techserv@promega.com

Síntomas	Causas y comentarios
Recuperación de ácido nucleico viral inferior a la esperada (por ejemplo, para controles internos proporcionados por el cliente)	La integridad de las muestras iniciales se vio comprometida. Asegúrese de que las muestras se recogen, envían y almacenan de acuerdo con las directrices internas.
	Para las muestras de ARN viral, asegúrese de que se dan condiciones sin ARNasa para la preparación y configuración del análisis, incluidos tubos libres de ARNasa y puntas de pipeta.
	El Maxwell® 16 Instrument se configuró para un método incorrecto. Asegúrese de que se ha elegido el método viral correcto.
	El paso de procesamiento no fue óptimo. • Prepare el tampón lítico y la endopeptidasa K inmediatamente antes de su uso y deseche las soluciones no utilizadas. • Utilice el tampón lítico proporcionado con este kit. • Una mezcla incompleta puede reducir la lisis. Mezcle la muestra con la solución lítica mediante un vórtex, como se recomienda. • Tratamiento incompleto de endopeptidasa para retirar los cápsides virales. Compruebe el bloque calefactado o la temperatura del baño de agua, e incube durante el tiempo completo que se recomienda. • Es posible que algunos virus puedan necesitar temperaturas de incubación más elevadas. • La adición de más muestra que la recomendada puede recudir la recuperación de ácido nucleico.
	Compruebe que el émbolo para LEV se haya añadido al cartucho.
	Asegúrese de que todos los cartuchos estén encajados en la gradilla de forma adecuada antes del procesamiento.
	Problema de almacenamiento tras la purificación. • Retire los eluados y almacénelos a la temperatura recomendada inmediatamente después de la ejecución del Maxwell® 16 IVD Instrument. • No someta los eluados a ciclos repetitivos de congelación-descongelación antes de los análisis posteriores.
	Es posible que el sistema no purifique de forma eficiente los controles internos de ácido nucleido inferiores a 100 bp. El usuario es el responsable de establecer el rendimiento de cualquier control interno.



Síntomas	Causas y comentarios
Amplificación pobre	El arrastre de partículas paramagnéticas puede provocar interferencias en la reacción de amplificación. Elimine las partículas del tubo de elución mediante un centrifugado.
	Se ha añadido un tampón de elución incorrecto. Utilice únicamente el agua libre de nucleasa que se proporciona con el Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification System.
Contaminación cruzada	Utilice puntas de pipeta nuevas para cada muestra para evitar la contaminación entre muestras.
	Evite provocar salpicaduras cuando añada los lisados a los cartuchos. Los cartuchos pueden retirarse de la gradilla para la adición de muestras con el fin de minimizar la contaminación de los cartuchos adyacentes.
El método viral no aparece como opción en el instrumento	En el caso del Maxwell 16 MDx Instrument (n.º de cat. AS3050), compruebe que el instrumento se encuentra en modo LEV.
Fallo de alimentación durante la ejecución del instrumento	Para recuperar las muestras tras un fallo de alimentación, en primer lugar asegúrese de que las partículas se encuentren en uno de los pocillos del cartucho y no están adheridas al émbolo. Si el fallo de alimentación se produce en un punto en el que las partículas magnéticas se han adherido a la parte externa de los émbolos, mueva de forma manual los émbolos hacia arriba y hacia abajo en los pocillos para desprender las partículas y, a continuación, retire de forma manual los émbolos del instrumento y reinicie la purificación desde el principio con émbolos nuevos.

[a]U.S. Pat. Nos. 7,329,488, 7,721,947 and 7,891,549 and other patents pending.